BEITRAG ZUR KENNTNIS DER IM CONIFERENHONIG VORKOMMENDEN DEXTRINE.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWUERDE

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTAET

(II. SEKTION)

DER

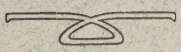
KGL. BAYER. LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITAET ZU MUENCHEN

VORGELEGT AM 1. FEBRUAR 1904.

VON

PAUL WOLFF

AUS BARMEN.



MUENCHEN 1904.

DRUCK VON H. BIERMANN & CO., BARMEN.

BEITRAG ZUR KENNTNIS DER IM CONIFERENHONIG VORKOMMENDEN DEXTRINE.

INAUGURAL-DISSERTATION

ZUR

ERLANGUNG DER DOKTORWUERDE

DER

HOHEN PHILOSOPHISCHEN FAKULTAET

(II. SEKTION)

DER

KGL. BAYER. LUDWIG-MAXIMILIANS-UNIVERSITAET ZU MUENCHEN

AGAD.
LUCB.BAT.
BIBL.

VORGELEGT AM 1. FEBRUAR 1904.

VON

PAUL WOLFF

AUS BARMEN.

MUENCHEN 1904.

DRUCK VON H. BIERMANN & CO., BARMEN.

Digitized by the Internet Archive
in 2026

https://archive.org/details/IA41552302_0104

Meiner lieben Mutter

in Dankbarkeit

gewidmet.

Ueber die rechtsdrehenden Bestandteile des Coniferenhonigs, die sogenannten Honigdextrine, finden sich in der Litteratur mannigfache Arbeiten, von denen hier die hauptsächlichsten aus der Zusammenstellung von J. Monheim und E. Beckmann[1]) wiedergegeben sein mögen.

O. Haenle[2]) hat durch Untersuchungen festgestellt, dass auch gewisse rechtsdrehende Honige als zweifellos ächt angesehen werden müssen, während die meisten Blütenhonige die Ebene des polarisierten Lichtstrahles nach links ablenken. Dieser Forscher wies darauf hin, dass in coniferenreichen Gegenden solche rechtsdrehende Tannenhonige häufiger vorkommen und glaubte als Ursache der rechtsdrehenden Eigenschaft ein dextrinartiges Kohlehydrat ansehen zu sollen.

Haenle und nach ihm eine Reihe anderer Forscher haben versucht, den rechtsdrehenden Körper zu isolieren. E. von Raumer[3]) und W. Mader[4]) suchten denselben aus der durch Bierhefe vergohrenen Honiglösung durch Alkohol zu fällen. Amthor[5]) gewann ihn aus der von Verunreinigungen möglichst befreiten, vergohrenen Honiglösung durch Eindampfen und Austrocknen im Exsiccator.

Haenle[6]) und von Raumer[7]) fällten später den Körper direkt aus Honig durch Fraktionieren mit Alkohol-Wasser

---

[1]) J. Monheim, Beitrag z. Kenntnis d. Tannenhonigs. — Inaug. Dissertation Erlangen 1899.

[2]) Wiggers und Husemann, Jahr. Ber. 1883—1884, 590.

[3]) Zeitschr. f. angew. Chemie 1889, 607.

[4]) Archiv f. Hygiene X, 436.

[5]) Zeitschr. f. angew. Chemie 1889, 575.

[6]) O. Haenle: die Chemie des Honigs, Strassburg 1892.

[7]) Zeitschrift f. angew. Chemie 1889 Heft 21.

Mischungen verschiedener Stärke. Keiner der genannten Forscher hat die chemische Natur dieses Honigdextrins festgestellt. Man beschränkte sich auf Angabe etlicher Eigenschaften des Honigdextrins: Aussehen, Lösungsverhältnisse, Verhalten der Lösung dem polarisierten Lichtstrahl gegenüber vor und nach der Inversion mit Salzsäure, Reduktionsvermögen gegen Fehling'sche Lösung, Uebergang des Kohlehydrates in Glukose durch Hydrolyse[1]), Vergährbarkeit etc. Von Raumer[2]) wies daraufhin, dass das Honigdextrin und das Schmitt'sche Gallisin im Drehungsvermögen Aehnlichkeit, im Reduktionsvermögen grossen Unterschied aufweisen. O. Künnemann und A. Hilger[3]) haben aus einem rechtsdrehenden Honig einen Körper isoliert, welchen sie als Achroodextrin $[(C_{12}H_{20}O_{10})_6\ H_2O$, Mol. Gew. 1962]^4) ansehen, sowie ein Disaccharid, das sie für Maltose halten. Sie kommen schliesslich zu der Annahme, dass die Rechtsdrehung vieler Naturhonige durch die Gegenwart von Achroodextrin, dem jedenfalls noch Maltose beigemischt ist, veranlasst wird.

E. Beckmann[5]) untersuchte das Verhalten von Stärkedextrinen, Stärkesyrup, festem Stärkezucker, Coniferenhonig und Gemischen derselben gegen Methyl- und Aethylalkohol mit Baryumhydratlösung bezw. Bleiessig.

E. Burkhardt[6]) führte die Untersuchungen fort und zieht daraus den Schluss, „dass das in rechtsdrehenden Honigen enthaltene Dextrin ein niedriges Molekulargewicht besitzt," ferner „dass die starke Rechtsdrehung des untersuchten

---

[1]) Amthor Vierteljahrschrift 1887, 409.
[2]) Zeitschr. f. angew. Chemie 1889, 607.
[3]) Forschungs-Berichte 1896, 211.
[4]) Lintner und Düll, B. B. XXVI, 2543.
[5]) Fresenius, Zeitschr. f. analyt. Chemie XXXV, 263.
[6]) Beiträge zur Kenntnis des Honigs und der Dextrine. — Inaug. Dissertation Erlangen 1897.

Tannenhonigs nur zum geringsten Teil den spärlich vorhandenen Dextrinen zuzuschreiben ist.“

J. Monheim und E. Beckmann[1]) kommen zu dem Resultat, dass „das rechtsdrehende Prinzip des untersuchten Tannenhonigs, das sog. Honigdextrin, keineswegs mit einem Stärkedextrin identisch ist. Es ist vielmehr ein Disaccharid, verschieden von Maltose und doch durch Hydrolyse in Glucose überführbar. Genannte Forscher stellten Benzoylester des Honigdextrins dar, „die am besten auf ein Gemenge von Penta und Hexabenzoat eines Disaccharids stimmten. Entsprechend den Saccharaten von Saccharose und Maltose waren die Präparate aus Honigdextrin in Aether löslich, während die Benzoate des gewöhnlichen Stärkedextrins grösstenteils darin unlöslich waren.“ Später gelang es A. Müller und E. Beckmann[2]) mit Benzolsulfochlorid Sulfonsäureester und mit m-Nitrobenzoylchlorid m-Nitrobenzoate darzustellen.

In neuester Zeit stellten O. Haenle und A. Scholz[3]) auf Grund einer Arbeit von M. Hönig[4]): „Ueber Zusammensetzung und Untersuchung von Stärkesyrupen,“ Versuche an, diese Methode zur Trennung der im Honig vorkommenden Dextrine anzuwenden. Sie kommen zu dem Schluss, dass „das sog. Dextrin der Tannenhonige aus verschiedenen schwer vergährbaren Körpern besteht und deshalb durch Vergähren des Honigs mit Weinhefe zu erhalten ist.“ Aus der nach der Gährung zurückbleibenden stark rechtsdrehenden Lösung wird das Dextrin durch Alkohol-Aether gefällt, gewogen und auf

[1]) Beitrag zur Kenntnis des Tannenhonigs. — Inaug. Dissertation Erlangen 1899.

[2]) Zeitschr. f. Untersuchung d. Nahrungs- u. Genussmittel 1901 S. 1068.

[3]) „ „ „ „ „ „ „ 1903 S. 1027.

[4]) „ „ „ „ „ „ „ 1903 S. 641.

den angewandten Honig berechnet. Verfasser bestimmen sodann das Reduktionsvermögen des Honigdextrins gegen Fehling'sche Lösung direkt, nach einhalbstündiger Inversion mit 1% iger Salzsäure und nach 3stündiger Inversion mit conzentrierter Salzsäure unter Verschluss auf dem Wasserbade. Nach diesen Versuchen ist das Reduktionsvermögen gegen Fehling'sche Lösung sehr gering. Durch Inversion werden aber etwa 30% in reduzierendes Kohlehydrat verwandelt.

Ein Teil dieses Dextrins ist in 87% igem Alkohol unlöslich und aus verdünntem Alkohol als Baryumverbindung fällbar.

Zur weiteren Aufklärung der Frage über die Isolierung und die Eigenschaften der rechtsdrehenden Bestandteile des Coniferenhonigs, der sog. Honigdextrine, wurden von uns eingehende Untersuchungen gemacht, deren Ergebnisse wir im Nachstehenden mitteilen.

Zur Verfügung standen vier Honige, die infolge ihrer ziemlich starken Rechtsdrehung zu den typischen Coniferenhonigen gerechnet werden können.

Um das rechtsdrehende Prinzip derselben zu isolieren, ging ich von Fällungen mit Methylalkohol aus. Diese wurden so ausgeführt, dass der Honig durch Erwärmen verflüssigt, mit der gleichen Menge Methylalkohol angerieben und schliesslich soviel desselben Alkohols hinzugebracht wurde, dass im Ganzen die zehnfache Menge, wie Honig angewandt, erreicht wurde. Das Gemisch blieb zunächst ziemlich klar, aber nach einiger Zeit schied sich eine schmutziggelbe Masse in Flocken ab, die durch Absitzenlassen und Abheben der überstehenden Flüssigkeit gesammelt wurde. Ein Abfiltrieren der Masse

war nicht möglich, da sich die Poren des Filtrierpapiers bald zusetzten, sodass kein Tropfen der Flüssigkeit mehr ablief. Dagegen hatte der Versuch, durch Centrifugieren den Körper von der Flüssigkeit zu trennen, Erfolg. Auf diese Weise liess sich die Masse auch auswaschen, indem man sie wiederholt mit Methylalkohol anrieb und wieder durch Centrifugieren Körper und Flüssigkeit trennte. Schliesslich wurde die feuchte Masse im Vakuum über Phosphorpentoxyd getrocknet.

Der so erhaltene Körper stellte ein braungelbes Pulver dar, das, einmal trocken, nicht mehr hygroskopisch war. In Wasser war es nur zur Hälfte löslich; es blieb eine grauschwarze Masse zurück, die nicht näher untersucht wurde, als dass durch die gewöhnliche Reaktion ein beträchtlicher Gehalt an Stickstoff konstatiert wurde.

Die wässrige Lösung sollte nun das gesuchte Honigdextrin enthalten, dessen Abscheidung auch wieder durch Fällen mit Methylalkohol, Centrifugieren und Trocknen über Phosphorpentoxyd gelang.

Der Körper löste sich jetzt vollkommen in Wasser, aber mit braunroter Farbe: diese verhinderte, festzustellen, ob hier der die Ebene des polarisierten Lichtes nach rechts ablenkende Körper vorläge oder nicht. Es musste daher vor allem daran gelegen sein, die Lösung möglichst zu entfärben. Ein Niederschlagen des Farbstoffes mit Thonerdehydrat misslang, ebenso wurde durch Aufkochen mit frisch ausgeglühter Tierkohle wenig erreicht. Bei einem Versuch, den Farbstoff mit neutralem Bleiacetat zu fällen, trat eine starke Ausscheidung ein. Es lag deshalb die Vermutung nahe, dass durch neutrales Bleiacetat nicht nur der Farbstoff, sondern auch der gesuchte Körper gefällt würde. Der so gebildete Niederschlag wurde gesammelt und mit Schwefelwasserstoff zerlegt.

Das Filtrat vom gebildeten Bleisulfid wurde durch Eindampfen conzentriert und wieder mit der zehnfachen Menge Methylalkohol versetzt. Es schied sich diesesmal ein schön weisser Körper in Flocken aus, der nach dem Trocknen ein rein weisses, nicht hygroskopisches Pulver darstellte. Er war nun im Wasser mit hellgelber Farbe vollkommen löslich: seine Lösung drehte aber weder den polarisierten Lichtstrahl, noch reduzierte sie nach dem Kochen mit verdünnter Salzsäure Fehling'sche Lösung. Es musste also hier etwas anderes, als das gesuchte Honigdextrin, vorliegen. Eine Elementaranalyse lieferte immer variierende Resultate, da der Aschegehalt über 50% betrug. Dennoch zeigte sie, dass ein organischer Körper vorliegen musste. Auf Grund der Fällbarkeit mit neutralem Bleiacetat wurde deshalb eine grössere Menge des Körpers dargestellt, und zwar so, dass nunmehr die wässrige Honiglösung direkt einer Fällung unterzogen wurde:

Zu diesem Zwecke wurde 1 kg Honig in 2 kg Wasser gelöst und eine wässerige Lösung von 12 Gramm Bleiacetat hinzugefügt. Es entstand sofort ein flockiger gelbbrauner Niederschlag, der sich rasch absetzte. Auf Zusatz von weiterem Bleiacetat zu einer Probe der überstehenden Flüssigkeit entstand kein Niederschlag mehr, ein Zeichen, dass alles ausgefällt war. Am besten gelang es den Niederschlag von der zuckerhaltigen, überstehenden Flüssigkeit durch häufiges Dekantieren zu trennen; die Abwesenheit von Zucker in der überstehenden Flüssigkeit war nach fünfmaliger Dekantation eingetreten. Der Niederschlag wurde schliesslich in Wasser fein verteilt und durch Schwefelwasserstoff zerlegt; dabei blieb viel Bleisulfid in der Flüssigkeit colloidal gelöst, welches sich nicht durch Erwärmen zur Abscheidung bringen liess. Dagegen gelang dieses durch einstündiges Erwärmen mit etwas Ammoniumnitrat.

Das eingedampfte Filtrat lieferte auf Zusatz von Methylalkohol eine weisse flockige Fällung. Aber auch bei dieser Darstellung wurde ein stark aschehaltiger Körper erhalten, der zur Elementaranalyse nicht tauglich war.

Es musste daher das Bestreben sein, den Körper durch irgend eine Methode möglichst aschefrei darzustellen. Die Asche bestand aus Calcium- und Magnesiumphosphat und reagierte ausserdem alkalisch. Es wurde eine nochmalige Fällung mit Bleiacetat in salpetersaurer Lösung versucht, aber auch hierdurch wurde keine Reduktion der Mineralbestandteile erreicht, vielmehr war der Versuch mit grossen Verlusten an Substanz verbunden. Auch durch wiederholtes Fällen mit Methylalkohol war keine Verminderung, sondern im Gegenteil eine Anreicherung an Mineralbestandteilen zu verzeichnen.

So wurde denn ein anderer Versuch gemacht, der darin bestand, eine Componente der Mineralbestandteile, die Phosphorsäure, zu entfernen, um dadurch die Bedingungen wegzunehmen. dass sich beim Fällen der phosphorsaure Kalk mit dem Körper niederschlagen konnte. Diese Methode hatte Erfolg.

Vor der Entfernung der Phosphorsäure musste übrigens etwa vorhandene Ameisensäure durch Destillieren der wässrigen angesäuerten Lösung mit Wasserdampf fortgeschafft werden. Es zeigte sich jedoch, dass keine Ameisensäure mehr vorhanden war: wahrscheinlich war durch das häufige Dekantieren des Bleiniederschlages etwa vorhandenes ameisensaures Blei in Lösung gegangen. Zur Entfernung der Phosphorsäure wurde die ammoniakalische Lösung mit Magnesiamixtur versetzt und in der Kälte 24 Stunden stehen gelassen. Es schied sich eine reichliche Krystallmasse von Ammonium-Magnesiumphosphat aus. Die vom Ammonium-

magnesiumphosphat abfiltrierte ammoniacalische Lösung wurde mit Tierkohle entfärbt, mit Essigsäure schwach angesäuert und wieder mit Bleiacetat gefällt. Der Bleiniederschlag wurde durch Dekantieren gewaschen, bis keine Ammoniumsalze mehr in der überstehenden Flüssigkeit nachzuweisen waren. Die darauffolgende Zerlegung mit Schwefelwasserstoff beanspruchte ein längeres Einleiten eines kräftigen Gasstromes. Die vom Bleisulfid abfiltrierte Lösung blieb auch nach dem Verjagen des Schwefelwasserstoffes sauer, es schien also hier eine organische Säure vorzuliegen. Mit Methylalkohol entstand jetzt keine Fällung mehr, die freie Säure ist also darin löslich. Es gelang nicht, die Säure in krystallisiertem Zustande darzustellen, deshalb wurde versucht, mit Hülfe eines krystallisierbaren Salzes zu ermitteln, welche organische Säure hier vorläge.

Dieses gelang durch die Darstellung des Baryumsalzes. Die saure wässerige Lösung wurde mit einem Ueberschuss von frisch gefälltem Baryumcarbonat gekocht, bis neutrale Reaktion eingetreten war. Die Lösung wurde heiss abfiltriert und bis zum Krystallisationshäutchen eingedampft.

In der Kälte schieden sich farblose schön ausgebildete Krystalle aus, die sich unter dem Mikroskop als farblose, zu Büscheln vereinigte Nadeln zeigten. Diese wurden gesammelt und über Chlorcalcium getrocknet. Beim Trocknen über Schwefelsäure geht ein Teil des Krystallwassers verloren, deshalb wurde einerseits das über Chlorcalcium und dann das bei 105° bis zur Gewichtskonstanz getrocknete Salz annalysiert.

Die Elementaranalyse des über Chlorcalcium getrockneten Salzes zeigte einen Kohlenstoff- und Wasserstoffgehalt für äpfelsaures Baryum mit 2 Mol. Krystallwasser, ebenso stimmte der Baryumgehalt für dieses Salz. Das bei 105° getrocknete Salz stimmte auf dasselbe Salz ohne Krystallwassergehalt.

Analyse des über $CaCl_2$ getrockneten Basalzes:

Zur Elementaranalyse wurde das Salz fein gepulvert und im Mischrohr mit Bleichromat gemischt, da sonst das sich bei der Verbrennung intermediär bildende Baryumkarbonat nicht zerlegt werden würde.

Der Baryumgehalt wurde nach bekannter Methode ermittelt, indem zunächst das Salz durch langsames Erhitzen verkohlt und dann mit einigen Tropfen verdünnter Schwefelsäure durchfeuchtet wurde. Nachdem das Wasser auf dem Wasserbade vollständig verdampft war, wurde die überschüssige Schwefelsäure durch vorsichtiges Erhitzen mit einer kleinen Flamme abgeraucht. Schliesslich wurde das gebildete Baryumsulfat schwach geglüht und als solches zur Wägung gebracht.

I. Elementaranalyse:

1. 0,1838 gr Substanz lieferten:
0,1154 CO_2 und 0,0480 H_2O = 15,64 % C und 2,92 % H.
2. 0,2046 gr Substanz lieferten:
0,1176 gr CO_2 und 0,0514 gr H_2O = 15,67 % C und 2,81 % H.

II. Baryumbestimmung:

1. 0,1950 gr Substanz lieferte:
0,1494 gr Ba SO_4 = 45,09 % Ba.
2. 0,2546 gr Substanz lieferte:
0,1942 gr Ba SO_4 = 44,89 % Ba.

Berechnet für:	Gefunden:	
$C_4H_4O_5Ba + 2H_2O$	I	II
Ba = 44,91 %	45,09	44,89
C = 15,73 %	15,64	15,67
H = 2,62 %	2,92	2,81

Analyse des bei 105° getrockneten Basalzes:

I. Elementaranalyse:

1. 0,1606 gr Substanz lieferten:

0,1038 gr CO_2 und 0,0238 gr H_2O = 17,63% C und 1,65% H.

2. 0,2028 gr Substanz lieferten:

0,1320 CO_2 und 0,0348 H_2O = 17,75% C und 1,91% H.

II. Baryumbestimmung:

1. 0,1686 gr Substanz lieferte:

0,1464 gr $BaSO_4$ = 51,10% Ba.

2. 0,1714 gr Substanz gelieferte:

0,1480 gr $BaSO_4$ = 50,82% Ba.

Berechnet für:	Gefunden:	
$C_4H_4O_5Ba$	I	II
Ba = 50,92%	51,10	50,82
C = 17,84%	17,63	17,75
H = 1,48%	1,65	1,91

Darstellung des Silbersalzes:

Die wässerige Lösung des Baryumsalzes wurde mit Silbernitrat gefällt, es schied sich ein weisser Niederschlag aus, der abgesaugt und solange ausgewaschen wurde, bis im ablaufenden Wasser keine Salpetersäure mehr nachzuweisen war. Ein zu langes Auswaschen bringt grossen Substanzverlust mit sich. Das Salz wurde bei 105° getrocknet, wobei eine Veränderung der Farbe nicht stattfand. Wohl aber wurde es am Licht rasch violett. Durch Kochen mit Wasser geht es unter Bräunung in Lösung.

Das getrocknete Salz wurde zur Silberbestimmung im Porzellantiegel durch langsames Erhitzen und späteres kräftiges

Glühen von den organischen Bestandteilen befreit. Das zurückbleibende metallische Silber wurde als solches gewogen.

Silberbestimmung:

0,2088 gr Substanz lieferte:

0,1296 gr Ag = 62,07 % Ag.

Berechnet für:	Gefunden:
$C_4H_4O_5Ag_2$	
62,06 % Ag.	62,07 % Ag.

Es stimmte demnach auch dieses Salz auf äpfelsaures Silber, nicht nur in seinem Silbergehalt, sondern auch in seinen Eigenschaften.

Die freie Säure.

Versuche, die freie Säure in krystallisiertem Zustande zu gewinnen, scheiterten. In wässeriger Lösung dreht die Säure die Ebene des polarisierten Lichtes nicht. Sie reduziert Palladimuchlorürlösung beim Kochen. Auch in linksdrehenden Blütenhonigen findet sich die gleiche Säure, so dass sie als normaler Bestandteil aller Honige anzusehen ist.

Darstellung eines Honigdextrins:

Da die Fällungen mit Methylalkohol nicht den gesuchten rechtsdrehenden Körper des Coniferenhonigs ergeben sondern hauptsächlich phosphorsauren und äpfelsauren Kalk neben stickstoffhaltiger Substanz niedergeschlagen hatten, wurden nunmehr Versuche angestellt, ihn auf andere Weise zu isolieren.

Fällungen mit 96%igem Aethylalkohol ergaben immer nur schmierige Ausscheidungen, auch wenn diese wiederholt in wenig Wasser gelöst und in gleicher Weise nochmals gefällt

wurden. Es wurden deshalb Versuche angestellt, den Honig mit Mischungen von Methyl- und Aethylalkohol zu fällen, und zwar unter verschiedenen Mischungsverhältnissen der beiden Alkohole. Bei Zusatz von viel Methyl- und wenig Aethylalkohol erhielt man wohl flockige Ausscheidungen, aber es blieb in diesem Falle zu viel der rechtsdrehenden Substanz in Lösung. Umgekehrt entstanden wieder mit wenig Methyl- und viel Aethylalkohol Schmieren. Auf Grund vieler Versuche wurden schliesslich die günstigsten Fällungsbedingungen gewählt, die einerseits zu einer möglichst guten Ausbeute, andrerseits zu flockigen Ausscheidungen führten, denn offenbar würden klebrige, schmierige Massen immer Zucker mitreissen. Bemerkt sei noch, bevor ich näher auf die Methode selbst eingehe, dass man gezwungen ist, nicht mehr als 100 Gramm Honig auf einmal zur Fällung zu bringen, denn sonst entstehen auch bei dieser Methode leicht Schmieren, dagegen bei genauer Einhaltung aller Verhältnisse wenigstens bei der zweiten Fällung schon flockige Ausscheidungen. Dann musste natürlich auch mein Augenmerk darauf gerichtet sein, den Körper möglichst frei von Farbstoff zu gewinnen, da sonst die Feststellung der specifischen Drehung unmöglich ist, ganz abgesehen davon, dass die Reinheit der Fällungen sehr beeinträchtigt würde.

Merkwürdiger Weise gelingt ein Entfärben der wässerigen Lösung des mehrmals gefällten Körpers nicht so gut, als wenn man zuerst den Honig in wässeriger Lösung durch einmaliges Aufkochen mit ausgeglühter Tierkohle entfärbt, zur früheren Honigkonsistenz eindampft und dann erst zur eigentlichen Fällung schreitet. Auf diese Weise entfärbter Honig wurde nun unter Beobachtung folgender Mischungsverhältnisse etc. zur Fällung verwandt:

100 Gramm Honig werden durch Erwärmen verflüssigt und mit 200 ccm Methylalkohol angerieben. Die Lösung bleibt zunächst klar, aber nach einigem Stehen bilden sich flockige Ausscheidungen, die, wie vorher bewiesen, aus phosphor- und äpfels. Kalk resp. Magnesia und stickstoffhaltiger Substanz bestehen. Von diesen wird nach 24 stündigem Stehen abfiltriert und zum Filtrat 700 ccm Aethylalkohol (96%) unter Umschütteln allmählich hinzugesetzt. Es entsteht eine fast weisse Auscheidung in Flocken, die sich aber bei dieser ersten Fällung durch den Wassergehalt des Honigs bald an der Gefässwand festsetzen. Die Flüssigkeit wird nach kurzem Stehen abgegossen; lässt man länger mit derselben in Berührung, dann geht wieder ein Teil der Ausscheidung durch den Zusatz von Methylalkohol in Lösung. Verfährt man mit der ganzen Operation rasch, so bleibt nur ein kleiner Teil des rechtsdrehenden gesuchten Körpers in Lösung, wie später durch einen speciellen, quantitativen Versuch bewiesen werden wird. Die an der Gefässwand festhaftende Ausscheidung wird in 15 ccm Wasser gelöst, mit 15 ccm Methylalkohol verdünnt, filtriert und in dünnem Strahle wieder zu einer Mischung von 200 ccm Methyl- und 800 ccm Aethylalkohol gebracht. Schon bei dieser zweiten Fällung bildete sich eine rein weisse, flockige Ausscheidung, die sich auch bei einigem Stehen nicht mehr zu einer klebrigen Masse festsetzte. Der geringe Zusatz von Methylalkohol zu der wässerigen Lösung vor der Fällung hat den Zweck, erstens die stickstoffhaltige, noch in Lösung befindliche Substanz vollständig auszufällen und zweitens, damit die Lösung in verdünnterem Zustand wieder zur Fällung gebracht wird. Unterlässt man diesen Zusatz, so bilden sich leicht klebrige Ausscheidungen, die sich zusammensetzen und dadurch Zucker einschliessen würden.

Die Fällung wird nun rasch abgesaugt, wieder in 15 ccm Wasser gelöst und die Lösung nach Zusatz von 15 ccm Methylalkohol abermals in die gleiche Mischung von Methyl- und Aethylalkohol gegeben. Nach dem Absaugen und Auswaschen mit absolutem Alkohol wird die ganze Nutsche mit der Substanz möglichst rasch in einen mit Phosphorpentoxyd beschickten Exsiccator gebracht und evacuiert.

Unterbleibt das Auswaschen mit absolutem Alkohol, so wird die Substanz nach einiger Zeit im Exsiccator infolge zurückgebliebener Feuchtigkeit schmierig.

Auf diese Weise resultierte ein rein weisses, äusserst hygroskopisches Pulver, das in Wasser sehr leicht, klar und fast farblos löslich ist. Die wässrige Lösung reduciert Fehling'sche Lösung nicht sofort, erst nach einigem Aufkochen scheint Hydrolyse durch das Alkali einzutreten und infolgedessen Abscheidung von Kupferoxydul. Dasselbe ist mit Ost'scher Lösung und Soldaïni's Reagens der Fall, erst nach einigem Kochen tritt geringe Abscheidung von Kupferoxydul ein, die sich bei längerer Kochdauer allmählich vermehrt. Dagegen findet auf Barfoeds Reagens auch bei langem Kochen keine Einwirkung statt.

Auf Grund dieser Erscheinung und unserer Erfahrung glauben wir uns zu der Behauptung berechtigt, dass dieses Honigdextrin an sich nicht reduciert, dass es dagegen durch Alkali leicht hydrolysiert wird, wodurch dann Reduktion zu Kupferoxydul eintritt.

Leider erwies sich der Körper als nicht aschefrei, er enthielt noch 10—12% Asche, die namentlich aus phosphorsauren Salzen bestand.

Es wurden folgende Versuche angestellt, den Aschegehalt möglichst zu reducieren:

Fünf Gramm des aschehaltigen Dextrins wurden mit Methylalkohol angerieben und mit 500 Gramm desselben Alkohols stehen gelassen. Der grössere Teil der Substanz löste sich nach einiger Zeit auf, und ich hoffte, dass gerade der ungelöst bleibende Rückstand die Mineralbestandteile enthalten müsste. Die Lösung wurde von dem Rückstand abfiltriert, 400 ccm Methylalkohol abdestilliert und durch 400 ccm Aethylalkohol ersetzt. Es schied sich der Körper in weissen Flocken ab, aber eine Aschebestimmung der, wie vorher, getrockneten Substanz zeigte eine nur geringe Abnahme der Mineralbestandteile.

Nach mannigfachen anderen Versuchen, den Aschegehalt zu reducieren, so durch wiederholtes Lösen und Fällen des Dextrins, wurden schliesslich durch folgende Methode bessere Resultate erzielt, weshalb jedes, wie vorher, dargestellte Dextrin von nun ab immer dieser Reinigung unterzogen wurde:

Fünf Gramm Substanz werden in 1000 ccm Methylalkohol gelöst, die Lösung mit 50 Tropfen Salzsäure (spec. Gew. 1,125) angesäuert und sofort mit 500 ccm Aether versetzt, da in saurer Lösung Aethylalkohol nicht mehr im Stande ist, das Dextrin auszufällen. Die durch den Zusatz von Aether erfolgte Ausscheidung wird möglichst rasch abgesaugt und mit absolutem Alkohol solange ausgewaschen, bis die ablaufende Flüssigkeit neutral reagiert. Die Dextrine halten leicht Salzsäure zurück, deshalb muss auf deren vollständige Entfernung durch Auswaschen mit absolutem Alkohol besondere Sorgfalt gelegt werden. Ein Trocknen über Phosphorpentoxyd gelingt sicherer, als über Schwefelsäure.

Auf diese Weise wurde ein rein weisses, sehr leichtes Pulver erhalten, fast farblos und äusserst leicht in Wasser

löslich, schwerer, aber vollkommen in Methylalkohol. Es hat wenig süssen Geschmack und ist äusserst hygroskopisch. Das so erhaltene Dextrin muss längere Zeit im Wasserstoffstrom bei einer Temperatur von 100° bis zur Gewichtskonstanz getrocknet werden, da diese Körper die merkwürdige Eigenschaft haben, grössere Mengen Alkohol lange zurückzuhalten. Ein über Phosphorpentoxyd lange Zeit getrocknetes Dextrin verlor nämlich beim Trocknen im Wasserstoffstrom bei 100° fünf Prozent seines Gewichtes.

Eine Aschebestimmung zeigte nun folgendes Resultat:

1 Gramm Dextrin lieferte einen Rückbestand von 0,0247 gr = 2,47% Aschegehalt.

Ein Versuch durch nochmalige Fällung des Körpers in saurer Lösung den Aschegehalt weiter herabzudrücken, gelang nur in sehr beschränktem Masse ; nach dieser fünften Fällung wurden die Mineralbestandteile auf 2,26% reduciert. Deshalb wurde davon abgesehen, denn einerseits wurde der Aschegehalt zu wenig vermindert und anderseits ging dabei zu viel an Substanz verloren. Wohl kann man durch Fällen mit mehr Aether eine bessere Ausbeute erzielen, dafür erhält man aber wieder einen Körper, der mehr Mineralbestandteile enthält.

Bestimmung der specifischen Drehung:

1,3215 Gramm aschefreie Substanz (die 2,47% Asche wurden in Abrechnung gebracht) wurden in 25 ccm Wasser gelöst und diese Lösung im 200 mm Rohr polarisiert. Sie zeigte eine Rechtsdrehung von 16,5°. Danach beträgt die specifische Drehung :

$$(\alpha)_D = \frac{16{,}5 \cdot 25}{1{,}3215 \cdot 2} = +156^\circ$$

Ein aus demselben Honig getrennt dargestelltes Präparat,

bei dem aber eine Fällung mehr angewandt wurde, zeigte folgende spec. Drehung:

0,9283 gr Substanz wurden in 20 ccm Wasser gelöst und im 200 mm Rohr polarisiert, die Drehung betrug: + 14,58° ausgerechnet auf die specifische Drehung:

$$(\alpha)_D = \frac{14{,}58 \cdot 20}{0{,}9283 \cdot 2} = +157^0$$

Dieses ziemlich genaue Uebereinstimmen der specifischen Drehungen bei ganz getrennt isoliertem Dextrin, einmal durch viermalige, das andere Mal durch fünfmalige Fällung, zeigt, dass hier höchstwahrscheinlich eine einheitliche Substanz vorliegen muss. Auch bei wiederholter Neudarstellung resultierte immer ein Dextrin von constanter spec. Drehung.

Hydrolyse des Dextrins:

20 ccm einer wässerigen Lösung, die im 200 mm Rohr eine Rechtsdrehung von 16,5° zeigte, wurden mit 2 ccm Salzsäure (spec. Gew. 1,125) invertiert, und zwar wurde diese Inversion so ausgeführt, dass die Lösung mit der angegebenen Menge Salzsäure in einen Soxhletkolben gebracht und am Rückflusskühler im siedenden Wasserbade eine Stunde erwärmt wurde. Nach Verlauf dieser Zeit war die Rechtsdrehung auf 4,86° zurückgegangen, die durch weiteres Erwärmen unter den obigen Bedingungen nicht weiter reduciert wurde.

Diese constant bleibende + Drehung, auf Dextrose ausgerechnet, ergiebt das Resultat, dass 1 gr Dextrin bei der Inversion 0,8716 gr Dextrose liefert. Auch der Reduktionswert einer invertierten und entsprechend verdünnten Lösung stimmt genau auf Dextrose, ein Beweis, dass bei der Inversion nur Dextrose gebildet worden ist: 25 ccm einer Lösung, die nach der Polarisation 0,1842 gr Dextrose enthält, liefert mit 50 ccm Fehling'scher Lösung bei einer Kochdauer von zwei

Minuten 0,3498 gr metall. Kupfer, welches einer Menge von 0,1843 gr Dextrose entspricht.

Wohl ist diese Menge der durch Inversion gebildeten Dextrose (1 gr Dextrin = 0,8716 gr Dextrose) zu gering, es konnte aber sein, dass die zur Inversion verwandten 10% Salzsäure (1,125) gebildete Dextrose zerstört haben könnten. Es wurde deshalb der Versuch gemacht, eine Hydrolyse des Dextrins mit der Hälfte Salzsäure auszuführen. Hierdurch wurde ein etwas besseres Resultat erzielt, aber immerhin blieb noch ein Fehlbetrag an Dextrose, wie bei der Inversion eines Dextrins hätte entstehen müssen:

20 ccm Lösung wurden mit 1 ccm Salzsäure (spec. Gew. 1.125), wie vorher, im siedenden Wasserbade invertiert. Die Rechtsdrehung, die vor der Inversion 14,58° betragen hatte, ging im Laufe einer Stunde auf 4,44° zurück; ausgerechnet auf Dextrose würde demnach 1 gr Dextrin 0,9069 gr Dextrose bilden. Nach dem Reduktionswert gegenüber Fehling'scher Lösung lieferte 1 gr Substanz hierbei 0,9080 gr Dextrose.

Da auch diese Hydrolyse mit 5% Salzsäure einen Fehlbetrag an Dextrose aufwies, wurden Inversionsversuche mit schwächeren Säuren gemacht. Dabei zeigte sich aber, dass dieses Dextrin äusserst widerstandsfähig gegen diese Säuren ist. Essigsäure wirkt überhaupt nicht hydrolisierend, selbst durch Erhitzen mit 0,5% Oxalsäure unter Verschluss während zwei Stunden gelingt keine Inversion. Erst 2% Oxalsäure unter Druck wirken langsam hydrolisierend: Eine Lösung, die im 200 mm Rohr + 12,25° drehte, wurde mit 2% Oxalsäure unter Druck gesetzt, dabei ging die Rechtsdrehung in 2 Stunden auf 9,5°, nach weiteren 2 Stunden auf 6,5° zurück. Erst nach sechsstündigem Erhitzen im Wasserbade unter Verschluss betrug die Rechtsdrehung 5,7 °. Bei diesem Standpunkt

wurde der Reduktionswert gegen Fehling'sche Lösung bestimmt, dabei stellte sich aber heraus, dass noch keine vollständige Inversion eingetreten war, denn 1 gr Substanz ergab nur 0,65 gr Dextrose. Selbst 0,5% Schwefelsäure hydrolisiert dieses Dextrin in 2 Stunden nur unvollkommen, es ergab dabei 1 gr Substanz nur 0,55 gr Dextrose.

Prüfung auf Furfurolbildung:

Auch dieser Versuch findet seinen Grund darin, dass die nach der Inversion gefundene Dextrosemenge zu gering ist. Es lag die Vermutung nahe, dass dieser Mindergehalt an gefundener Dextrose durch eine Furfurolbildung erklärt werden könnte. Es wurden zu diesem Zwecke 1 gr Substanz mit 20 ccm Salzsäure (spec. Gew. 1,06) in einem Bade von Rose'schem Metall destilliert. Durch einen Tropftrichter wurde Salzsäure von demselben spec. Gewichte in demselben Maasse zufliessen gelassen, als abdestillierte. Das Destillat wurde auf Furfurol geprüft, indem ein Tropfen desselben auf mit Anilinacetatlösung getränktes Filtrierpapier gebracht wurde. Nach dem Abtrocknen zeigte sich eine ganz schwache Rotfärbung, so dass kein Beweis auf Furfurolbildung erbracht werden konnte.

Versuch der Darstellung eines Osazons:

Alle Versuche, mit dem so isolierten Dextrin ein Osazon darzustellen, blieben erfolglos, so dass es nicht dazu im Stande zu sein schien. Sowohl die Darstellung eines Osazons mit β-Naphtylhydrazin in methylalkoholischer Lösung, als auch mit essigsaurem Phenylhydrazin in wässriger Lösung, führte zu keinem Resultat. Dass es gelingt, mit hydrolisiertem Körper ein Osazon zu erhalten, ist klar, aber trotzdem wurde es dargestellt, als weiterer Beweis, dass bei der Hydrolyse Dextrose entstanden war. Zu diesem Zwecke wurde 1 gr

Dextrin in 20 ccm Wasser gelöst, und diese Lösung mit 1 ccm Salzsäure (1,125) invertiert. Nach Verlauf einer Stunde ist ja vollständige Hydrolyse eingetreten, wie vorher bewiesen ist. Zu der erkalteten und neutralisierten Lösung wurden 2 gr Phenylhydrazinhydrochlorat und 3 gr Natriumacetat hinzugefügt und auf dem Wasserbade erwärmt, indem man zur Abhaltung der Luft einen kräftigen Strom Kohlensäure einleitet. Nach kurzer Zeit scheidet sich das Osazon aus. Es hat nach wiederholtem Umkrystallisieren den constanten Schmelzpunkt von 204°. Es liegt also hier Phenylglucosazon vor, ein Beweis, dass bei der Hydrolyse Dextrose entstanden war.

Elementaranalyse:

Dieselbe erbringt den Beweis, dass in diesem Dextrin wirklich ein Polysaccharid der empirischen Formel $C_6 H_{10} O_5$ vorliegt.

Vor der Verbrennung musste besonders darauf geachtet werden, dass die Substanz bis zur Gewichtsconstanz getrocknet wurde, denn die letzten Anteile Feuchtigkeit scheinen erst nach langem Erhitzen im Wasserstoffstrom fortzugehen. Dann wurden die besten Resultate erzielt, wenn die Substanz in demselben Schiffchen verbrannt wurde, in dem sie bis zur Gewichtsconstanz getrocknet war. Das Schiffchen mit der Substanz wurde im Wägegläschen gewogen und erst in das Verbrennungsrohr gebracht, wenn der mit Kupferoxyd angefüllte Teil des Rohrs schon vollauf am Glühen war. Es wurden die folgenden Resultate erhalten; der gefundene Wasserstoffgehalt ist zwar etwas hoch, aber in Anbetracht der enormen Hygroscopität des Dextrins war es bei aller Vorsicht nicht möglich, bessere Werte zu erhalten:

I. 0,2294 gr (aschefreie Substanz) lieferten:
0,3720 gr CO_2 und 0,1380 H_2O = 44,23% C und 6,72% H.

II. 0,2546 gr Substanz lieferten:

0,4140 gr CO_2 und 0,1500 H_2O = 44,35% C und 6,59% H.

Berechnet für:	Gefunden:	
$(C_6 H_{10} O_5)_x$	I	II
C = 44,44%	44,23	44,35
H = 6,17%	6,72	6,59.

Der Honig, aus dem dieses Dextrin isoliert wurde, stammte aus dem badischen Schwarzwald, seine specifische Drehung war + 15,8°. Nachdem das Dextrin nach der oben angegebenen Methode gefällt war, betrug seine Drehung + 4,16°. Ein Beweis, dass ein grosser Teil dieser nach der Fällung verbleibenden Rechtsdrehung durch die Anwesenheit von Rohrzucker hervorgerufen wird, kann in diesem Falle dadurch erbracht werden, dass mit 0,5% Oxalsäure auf dem Wasserbade bei 70° invertiert wird. Das in diesem Honig enthaltende Dextrin wird ja dadurch nicht angegriffen; durch die Hydrolyse des Rohrzuckers geht die specifische Drehung des Honigs auf — 1,4° zurück.

Ich hoffte nun, durch diese Methode ein Dextrin isoliert zu haben, welches in jedem Coniferenhonig in gleicher Zusammensetzung, mit gleicher specifischer Drehung und gleichen Eigenschaften vorkommt. Aber gleich der zweite zur Untersuchung kommende Honig lieferte ein Dextrin von anderer specifischer Drehung und von zum Teil anderen Eigenschaften. Die Fällungen traten zwar in gleicher Weise ein, nur schien das aus den drei übrigen Honigen dargestellte Präparat in Methylalkohol leichter löslich zu sein. Auf Grund dieser verschiedenen Resultate wurden noch Dextrine aus drei weiteren Coniferenhonigen nach derselben Methode dargestellt. Aus jedem Honig resultierte ein Körper von constanter specifischer

Drehung, ob er vier oder fünfmal gefällt wurde. Jedes der drei folgenden Dextrine ergab eine andere specifische Drehung.

Unserer Ansicht nach existiert also in jedem Coniferenhonig ein Uebergangsstadium zwischen Stärke und Zucker, das sich leicht durch die angegebene Fällungsmethode als einheitliche Substanz gewinnen lässt. Bevor aber auf eine allgemeine Charakteristik der vier isolierten Honigdextrine eingegangen wird, sollen kurz die Resultate der folgenden drei Dextrine in Form einer Tabelle angegeben sein, die ihr specifisches Drehungsvermögen und ihr Verhalten bei der Hydrolyse feststellt.

Die Bestimmung der specifischen Drehung der Honige wurde mit 20%igen Lösungen im 100 mm Rohr ausgeführt, diejenige der Dextrine mit 5%igen Lösungen im 200 mm Rohr. Die Hydrolyse wurde in Uebereinstimmung mit dem vorher beschriebenen Dextrin so ausgeführt, dass wieder 25 ccm Lösung in einen Soxhlet-Kolben mit 5% Salzsäure (1,125) gebracht und eine Stunde im siedenden Wasserbade am Rückflusskühler erhitzt wurden. Nach Verlauf dieser Stunde wurden die Lösungen neutralisiert und auf das richtige Volumen von 25 ccm gebracht. Die Polarisation wurde wieder im 200 mm Rohr ausgeführt, die Verhältnisse der Drehungswinkel vor und nach der Inversion sind in der Tabelle angegeben.

Zur Bestimmung des Reduktionsvermögens wurden die Lösungen genügend verdünnt und je 25 ccm zur Bestimmung verwandt. Diese wurden nach der Allhin'schen Methode ausgeführt und zwar mit einer Kochdauer von zwei Minuten. Das im Wasserstoffstrom reducierte metallische Kupfer wurde nach der Wein'schen Tabelle auf Dextrose ausgerechnet. Zur Uebersicht und zum Vergleich sind auch die vorher näher

beschriebenen Resultate des Dextrins $(\alpha)_D = + 157^0$ in der Tabelle mit angeführt:

Coniferenhonig stammt aus: Jahrgang:	Spec. Drehung des Honigs: $(\alpha)_D = {}^0$	Spec. Drehung des Dextrins: $(\alpha)_D = {}^0$	Verhältnis der Drehungswinkel einer 5%igen Lösung vor und nach der Inversion	1 gr Dextrin liefert bei der Inversion Dextrose in gr	
				nach der Polarisation	nach dem Reduktionswert
1. Baden, Kinzigthal 1902	+ 16,87	+ 157	1 : 0,2945	0,8716	0,8720
2. Baden, Murgthal 1903	+ 7,9	+ 131,28	1 : 0,3330	0,8297	0,9080
3. Oberelsass 1903	+ 12,07	+ 125,59	1 : 0,300	0,7144	0,8362
4. Wasserburg am Bodensee 1903	+ 8,5	+ 119,9	1 : 0,3047	0,692	0,8249

Diese Tabelle zeigt folgende Thatsachen:

Bei allen Dextrinen geht die Rechtsdrehung durch Inversion mit Salzsäure stark zurück, und zwar ist der Unterschied der Drehungswinkel vor und nach der Inversion bei Dextrin $(\alpha)_D = + 157^0$ am grössten. Auffallend ist, dass die bleibende Rechtsdrehung bei diesem Dextrin genau auf Dextrose stimmt, während bei den übrigen drei Körpern der Reduktionswert stärker ist, als die nach der Inversion bleibende Rechtsdrehung. Es scheint jedoch hier eine gewisse Gesetzmässigkeit zu herrschen, insofern als der Unterschied der Rechtsdrehung und des Reduktionswertes (beide gerechnet auf Dextrose) um so grösser ist, je niedriger das specifische Drehungsvermögen des Dextrines war. In ihren Eigenschaften ähneln sich die letzten drei Dextrine sehr:

Diese werden zum Unterschied von Dextrin $(\alpha)_D = + 157^0$ leichter hydrolysiert; so greift schon 0,5 % Oxalsäure, wenn auch langsam, hydrolisierend an.

Dagegen vermag verdünnte Essigsäure auch hier keine Inversion herbeizuführen.

In Methylalkohol sind sie leichter löslich, als Dextrin $(\alpha)_D = +157^0$.

Ein durchschlagender Unterschied der drei Dextrine von Dextrin $(\alpha)_D = +157^0$ ist auch der, dass sie bei längerem Kochen mit essigsaurem Phenylhydrazin in wässeriger Lösung ein Osazon bilden. Die Abscheidung eines Osazons tritt auch hier erst nach $^1/_2$ stündigem Erhitzen ein und zwar in sehr geringer Menge, die sich aber bei längerem Kochen allmählich vermehrt. Immerhin bleibt die Menge noch nach 2 stündigem Erhitzen auf dem Wasserbade sehr gering, etwa 0,1 gr aus 1 gr Dextrin. Vermutet wurde, dass sich hier ein Dextrinosazon abscheidet, dessen Bildung aber sehr langsam in der Wärme vor sich geht. Da die Ausbeute sehr gering war, wurden etwa 10 gr Substanz (Dextrin $= +125^0$) zur Osazonbildung mit 20 gr salzsaurem Phenylhydrazin und 30 gr essigsaurem Natrium in wässeriger Lösung erwärmt. Da eine eventuelle Hydrolyse des Dextrins bei zu langem Kochen vermutet wurde, sollte nur das sich im Anfang abscheidende Osazon verwandt werden. Das nach einstündigem Erhitzen aus 10 gr Dextrin erhaltene Osazon betrug nach zweimaligem Umkrystallisieren aus absolut. Alkohol nur 0,7 gr. Da der Schmelzpunkt zwischen 202 und 203° lag, wurde Dextroseosazon vermuthet, welches sich infolge Hydrolyse des Dextrins gebildet haben konnte. Aber trotzdem wurde eine Elementaranalyse ausgeführt, die unsere Vermuthung allerdings bestätigte; es handelte sich also hier um die Bildung von gewöhnlichem Phenylglucosazon:

Elementaranalyse:

0,1066 gr Osazon lieferten:

0,2358 gr CO_2 und 0,0604 H_2O = 60,32 % C und 6,33 % H.

0,1168 gr Substanz lieferte 16,4 ccm Stickstoff.
Barometerstand b = 723 mm. Temperatur t = 14°
= 15,70 % N.

Berechnet für:	Gefunden:
$C_6H_{10}O_4$ $(N—NHC_6H_5)_2$	
C = 60,33 %	60,32 %
H = 6,14 %	6,33 %
N = 15,64 %	15,70 %

Ein Beweis, dass diese Bildung von Dextroseosazon nicht etwa von einem Zuckergehalt der 3 Dextrine herrührte, wurde durch folgenden Versuch erbracht: Je ein Gramm der Dextrine wurde in je 50 ccm Methylalkohol gelöst und 3 gr Phenylhydrazin (freie Base) hinzugesetzt. Es bildete sich beim Verdunstenlassen im Vacuum über Schwefelsäure keine Spur eines Osazons. Die vorherige Osazonbildung in wässeriger Lösung muss also lediglich darauf zurückgeführt werden, dass diese Dextrine bei anhaltendem Kochen mit essigsaurem Phenylhydrazin zersetzt werden, indem sich dabei mehr und mehr Dextrose und infolgedessen Dextroseosazon bilden.

Betreffs des Reduktionsvermögens der vier Dextrine sei folgendes bemerkt:

Dieselben reducieren an sich Fehling'sche Lösung nicht, erst nach einigem Kochen tritt Hydrolyse durch das Alkali und infolgedessen Abscheidung von Kupferoxydul ein, die sich durch längere Kochdauer schrittweise vermehrt.

Es wurde daher davon abgesehen, den Reduktionswert der Dextrine direkt festzustellen.

Mit Soldaïni's Reagens und Ost'scher Lösung ist dasselbe der Fall, erst nach einigem Kochen tritt schwache Reduction ein.

Alle vier Dextrine wirken auf Barfoeds Reagens auch bei anhaltendem Kochen nicht ein, sie werden durch Jod in

keiner Weise gefärbt und sind nur aus der Methylalkoholischen Lösung durch Baryumhydratlösung und Bleiessig fällbar.

Gährungs-Versuche.

O. Künnmann und A. Hilger[1]) haben das von ihnen isolierte Honigdextrin auf seine Vergährbarkeit mit gut charakterisierten, leicht controllierbaren Hefereinculturen untersucht. Sie kommen zu dem Schluss, dass „Weinhefen im Stande sind, das Honigdextrin nur in sehr geringer Menge zu vergähren, dass dagegen Bierhefen in allen Fällen bedeutend energischer wirken, aber dennoch höchstens die Hälfte aufzehren, dass nur Schizosaccharomyces Pombe dasselbe vollständig vergährt."

Verfasser stellten sich sogenannte Normalgährlösungen her, die, ausser einem bekannten Gehalt an Dextrin, Lävulose und Dextrose in einem Verhältnis enthielten, wie diese im Naturhonig vorkommen.

Bei dieser Methode wäre es denkbar, dass das Honigdextrin allein nicht vergähren würde, dass es nur durch die Vergährung der beiden Zuckerarten mit in diese hereingerissen werden könnte. Dann auch war es so unmöglich, zu constatieren, ob Vergährung oder Assimilation des Dextrins stattfindet.

Unser Augenmerk war also darauf gerichtet, Dextrinlösungen in Hefewasser als Nährlösung ohne Zusatz von Zucker auf Vergährbarkeit zu prüfen; auch wurde eine andere Methode angewandt und zwar die von P. Lindner[2]) ausgearbeitete, die es ermöglicht, mit wenig Substanz viele Hefen durchzuprobieren.

---

[1]) Forschungsberichte, 1896, 215.

[2]) Wochenschrift f. Brauerei 1900, S. 336 und 713. Eine einfache Methode zur Bestimmung der Vergährbarkeit der verschiedenen Zuckerarten durch Gährungsorganismen.

Die Versuche wurden sämmtlich in der Wissenschaftlichen Station für Brauerei in München, (physiologisch-biologische Abteilung) ausgeführt, und zwar unter der gütigen Aufsicht und Anleitung des Herrn Professors Dr. Will. Der grösste Teil der untersuchten Hefereinculturen stammte aus diesem Institut, einige aus dem Institut für Gährungsgewerbe in Berlin und endlich die Weinhefen aus der Hefereinzucht-Station bei der kgl. preuss. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau in Geisenheim.

Diese Gährungsversuche wurden wesentlich gefördert durch das Entgegenkommen nachstehender Herren, denen wir für Ihr Interesse und für die Ueberlassung von Hefe-Reinculturen zu ganz besonderem Dank verpflichtet sind:

Herrn Professor Dr. Lintner, Professor a. d. Techn. Hochschule und Direktor der Wissenschaft. Station f. Brauerei, München.

Herrn Professor Dr. Will, Abteilungsvorstand des genannten Instituts.

Herrn Professor Dr. P. Lindner, Vorsteher des botan. Laboratoriums und des Instituts für Gährungsgewerbe, Berlin.

Herrn Professor Dr. Wortmann, Direktor der kgl. preuss. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau in Geisenheim.

Bevor ich zu den Versuchen selbst übergehe, sei kurz beschrieben, wie die Hefereincultur bis zur Verwendung zu den Versuchen in zweckentsprechender Weise vorbereitet wurde:

Von der in Bierwürze vermehrten Hefe wird eine Strichkultur auf gehopfter Würzegelatine angelegt. Die Weinhefen wurden, da Traubenmost nicht zur Verfügung stand, ebenfalls

in Bierwürze aufgefrischt, die Strichkultur dagegen hier auf ungehopfter Würzegelatine angelegt. Ihre Entwicklung war auch so eine normale. Diese Strichkulturen werden in den Thermostaten bei 20° gebracht, und nach 8—14 Tagen hat sich die Hefe genügend vermehrt, um sie zur Anlegung von Gährversuchen verwenden zu können. Zu diesem Zwecke werden 2—3 Platinösen von dem dicken Hefebelag abgenommen und in etwa 10 ccm sterilen Hefewassers möglichst fein verteilt, mit der Vorsicht, dass ein Uebertragen von Nährgelatine vermieden wird. Alle diese Operationen, wie das nachfolgende Anlegen der Versuche, werden unter Beobachtung der üblichen Vorsichtsmassregeln im Impfkasten ausgeführt.

Als Gährgefäss dienen nach P. Lindner sterile hohlgeschliffene Objektträger, die man auf folgende einfache Weise mit der Hefe und der Dextrinlösung beschickt. Um die Höhlung des Objektträgers, deren Durchmesser ca. $1^1/_2$ cm beträgt, wird mit einem Pinsel ein ca. $^1/_2$ cm breiter Ring von Vaselinöl gezogen und mit einer sterilen Pipette 2—3 Tropfen sterilen Hefewassers, in dem die betreffende Hefe vorher fein verteilt war, in die Höhlung gebracht. Mit einem vorne breit geklopften Platindraht wird nun eine kleine Prise Dextrin in das Hefewasser auf den Objektträger gegeben und durch Umrühren mit dem Platindraht in Lösung gebracht. Dann wird die Höhlung mit einem Deckgläschen durch Darüberschieben verschlossen, mit der Vorsicht, dass keine Luftblase darunter verbleibt. Ein etwaiges Zuviel der Flüssigkeit muss mit sterilem Filtrierpapier sorgfältig entfernt werden, da sonst der Vaselinring nicht dicht schliessen würde.

Das so hergestellte Präparat bringt man in den Thermostaten zu 20° C. Nach 24, spätestens 48stündigem Stehen zeigt sich, ob eine Gasentwickelung eingetreten ist oder nicht. In

letzterem Falle erscheint das Präparat unverändert; ist eine Gährung eingetreten, so hat sich unter dem Deckglase eine mehr oder weniger grosse Gasblase gebildet, je nachdem, ob das Dextrin stark oder schwach angegriffen worden ist. Zur Vorsicht wurden alle Versuche während drei Tage im Thermostaten gelassen und täglich beobachtet.

Am praktischsten ist es, wenn man bei jeder Versuchsreihe gleichzeitig eine Serie (in unserm Falle 10) Objektträger auf die angegebene Weise mit Hefe und Hefewasser beschickt und dann je 2 zur Controlle ohne Dextrin und die übrigen zu den vier Dextrinen verwendet. Die Controlle ohne Dextrinzusatz hat den Zweck, den Nachweis zu erbringen, dass im Hefenwasser selbst vergährbare Substanz fehlt und dann, dass keine Nährgelatine mit übertragen worden ist, denn dann würde ohnehin eine Gährung stattfinden. Die beiden Paralellversuche eines jeden Dextrins müssen nach 24 — 48 Stunden genau übereinstimmen, im anderen Falle und auch, wenn keine Gährung eingetreten war, wurde der Versuch mit einer frischen Strichkultur wiederholt. Nach unserer Erfahrung kommt es auch sehr neben dem strikten Einhalten der von P. Lindner angegeben Methode darauf an, dass nur eine kleine Prise Dextrin in die Höhlung des Objektträgers gebracht wird, denn leicht wird bei der kleinen Flüssigkeitsmenge die Lösung zu concentriert, und es würde schon deshalb eine Gährung unterbleiben. In nachstehender Tabelle ist der Grad der Gährung durch folgende Zeichen angedeutet: „—“ bedeutet, dass keine Gährung eingetreten ist, „1“ eine schwache, „2“ eine mässige, „3“ eine starke Gährung. Bei letzterer ist oft die ganze Höhlung des Objektträgers von einer grossen Gasblase angefüllt oder gar das Deckgläschen fortgeschoben worden:

Hefereinculturen aus der Wissenschaftl. Station für Brauerei, München:

Bezeichnung der Reincultur	Alter der Strichcultur in Tagen	Dextrin $(\alpha)_D = +157°$	Dextrin $(\alpha)_D = +131{,}28°$	Dextrin $(\alpha)_D = 125{,}59°$	Dextrin $(\alpha)_D = +119{,}9°$
I. Saccharomyceten:					
A. Kulturhefen:					
1. Untergährige Bierhefen.					
Hefe Frohberg	6	—	3	3	3
Hefe Saaz	8	—	3	3	3
Stamm 2	8	—	3	3	3
Stamm 7	8	—	3	3	3
2. Obergährige Bierhefen:					
25/III	7	—	3	3	3
Rio	7	—	3	2	3
170/IV	12	—	3	2	3
S. Cerevisiae I (Hansen)	6	—	3	3	3
Hefe Logos (van Laer) .	8	2?	3	3	3
B. Wilde Hefen:					
Wilde Hefe No. 1 Will .	8	—	3	3	3
Wilde Hefe No. 2 Will .	8	—	3	3	3
S. ellipsoid. I (Hansen) .	8	—	3	3	3
S. ellipsoid II (Hansen) .	9	—	3	2	3
S. Pastorian. I (Hansen)	7	—	3	2	3
S. Pastorian. II (Hansen)	9	—	3	3	3
S. Pastorian. III (Hansen)	6	—	3	3	3
S. Apiculatus	16	—	—	—	—
S. Ludwigii (Hansen) .	8	—	1	1	1
S. Anomalus (Hansen) .	6	—	1	1	1
II. Schizosaccharomyceten:					
Schizosaccharom. Pombe	10	—	3	3	3
Schizos. octosporus . .	10	—	3	2	3

Hefen aus dem Institut für Gährungsgewerbe zu Berlin:

Bezeichnung der Reincultur	Alter der Strichcultur in Tagen	$(\alpha)_D = +157°$	$(\alpha)_D = +131{,}28°$	$(\alpha)_D = 125{,}59°$	$(\alpha)_D = 119{,}9°$
No. 97, Untergährige Brauereihefe	9	—	3	3	3
No. 429, Hefe Logos	9	—	3	3	3
No. 487, Rasse V, Presshefe . .	9	—	3	3	3
No. 574, Rasse VI, Presshefe . .	9	—	3	3	3
No. 637, Rasse VIII, Presshefe .	9	—	3	3	3
No. 578, Weinhefe	9	—	3	3	3

Weinhefen aus der Hefereinzucht-Station der kgl. preuss. Lehranstalt für Wein-, Obst- und Gartenbau:

Bezeichnung der Reincultur	Alter der Strichcultur	+ 157°	+ 131,28°	+ 125,59°	+ 119,9°
Steinberg 1892	10	—	1	—	1
Steinberg 1893	10	—	1	—	—
Assmannshausen	10	—	2	—	2
Zeltingen	10	—	1	—	1
Forst	10	—	1	—	1
Johannisberger Schloss 1893 . . .	10	—	1	1	1
Oppenheimer Kreuz	10	—	1	—	1
Wimmingen	10	—	1	—	1
Bordeaux	10	—	1	—	—
Laureiro	10	—	1	1	1

Aus vorstehender Tabelle ersieht man, dass das Dextrin der specifischen Drehung $(\alpha)_D = + 157°$, ausser in einem zweifelhaften Falle, von keiner Hefe vergohren worden ist. Eine Gasblase wurde bei Hefe Logos (van Laer) und zwar

nur bei einem einzigen Präparat dieses Dextrins wahrgenommen. Eine öfters wiederholte Controlle mit einer jedesmal frisch angelegten Strichkultur führte jedoch niemals zu einer Bestätigung der vorigen Beobachtung, so dass man eigentlich gezwungen ist, irgend einen Zufall oder Irrthum und keine Vergährung anzunehmen.

Die übrigen drei Dextrine wurden von allen Hefen, ausser von Saccharomyces apiculatus unter Gasentwicklung angegriffen.

Die Versuche mit Weinhefen lieferten im Wesentlichen dasselbe Resultat, nur dass überall eine weit schwächere Gasentwicklung, also Vergährung, wahrgenommen wurde. Auch hier wird Dextrin $(\alpha)_D = + 157^0$ in keinem Falle unter Gasentwicklung angegriffen. Auch bei Dextrin $(\alpha)_D = + 125^0$ konnte bei einigen Hefen keine Gasblase wahrgenommen werden, vielleicht ist aber dort die Kohlensäureentwicklung so gering, dass dieselbe in der Flüssigkeit gelöst bleibt.

Mit einer kräftig wirkenden Hefe, Oberhefe 25/III, wurde nun ein grösserer Versuch mit Lösungen von polarimetrisch festgestelltem Dextringehalt angestellt, einerseits, um zu constatieren, ob das Dextrin $(\alpha)_D = + 157^0$ auch nicht zum Aufbau der Hefezellen assimiliert würde, andererseits, ob die drei übrigen Dextrine vollständig vergohren würden.

Hierzu wurde zunächst die Oberhefe 25/III in einer sterilen Hefezuckerwasserlösung (6 gr Rohrzucker in 100 ccm Hefewasser) vermehrt, bis jede Spur von Rohrzucker vergohren war. Zur vollständigen Vergährung desselben und zur genügenden Vermehrung der Hefe wurde die in einem Pasteurkolben befindliche Lösung während zehn Tage im Thermostaten zu 25° C belassen. Nach vier Tagen war die stürmische Hauptgährung vorüber, dann fing die Hefe an, sich zu Boden zu setzen. Von diesem Zeitpunkt ab war

es nöthig, durch Schwenken des Kolbens die Hefe täglich aufzuschütteln, da sonst die unteren Schichten der Hefezellen von der Nahrung ausgeschlossen werden könnten. Diese Oberhefe 25/III war also im Stande, innerhalb zehn Tagen den Rohrzucker vollständig zu vergähren, dessen Abwesenheit sowohl durch Kochen mit Fehling'scher Lösung als auch durch das Polarisationsverfahren constatiert wurde. Es fand weder eine Reduction noch eine Ablenkung des polarisierten Lichtstrahles statt.

In der Zwischenzeit wurden Lösungen der vier Dextrine in Hefewasser hergestellt, deren Gehalt durch die Polarisation ermittelt wurde. Je 25 ccm dieser Lösungen wurden in ein kleines Pasteurkölbchen gebracht und im strömenden Dampf zweimal je 10 Minuten an zwei verschiedenen Tagen sterilisiert. Trotz der kurz bemessenen Sterilisation bräunten sich die vorher schwach gelb gefärbten Lösungen etwas, woraus eine Caramelisierung von einer Spur Dextrin geschlossen wurde. In die sterilen Lösungen wurden, unter Vermeidung einer secundären Infection, also im Impfkasten, je 2—3 Tropfen des dickbreiigen Hefeabsatzes übergeimpft und die Kölbchen in den Thermostaten zu 25° gebracht. In allen vermehrte sich die Hefe deutlich, auch in der Lösung des Dextrins $(\alpha)_D = +157^0$, wenn auch schwächer. Bei den drei anderen Dextrinen traten ausserdem Gährungserscheinungen auf, wie solches auch der Vorversuch auf den Objektträgern gezeigt hatte. Die Lösungen wurden so 20 Tage unter täglichem Aufschütteln der Hefe im Thermostaten gelassen, dann von dem Hefabsatz abfiltriert, bis zum vorigen Volumen von 25 ccm eingedampft und polarisiert. Aus der nachstehenden kleinen Tabelle ersieht man die Drehungen der Lösungen vor und nach der Vergährung, und da die Drehungen proportional

dem Gehalt an Dextrin sind, kann man auf einen Mindergehalt, sei es durch Vergährung oder Assimilation schliessen:

Präparat	Drehungswinkel der Lösung im 200 mm Rohr		Dextringehalt gr in 100 ccm		Vergohren oder assimiliert %
	vor der Gährung	nach der Gährung	vor der Gährung	nach der Gährung	
Dextrin $(\alpha)_D = +157^0$.	$+9{,}8^0$	$+8{,}25^0$	3,121	2,627	16 %
Dextrin $(\alpha)_D = +131{,}28^0$	$+9{,}37^0$	$+5{,}25^0$	3,576	2,003	44 %
Dextrin $(\alpha)_D = +125{,}59^0$	$+9{,}6^0$	$+5{,}1^0$	3,840	2,040	47 %
Dextrin $(\alpha)_D = +119{,}9^0$.	$+9{,}8^0$	$+4{,}9^0$	4,117	2,058	50 %

Bei Dextrin $(\alpha)_D = +157^0$ sind die fehlenden 16% nicht unter Gasentwicklung angegriffen, d. h. vergohren worden, sondern während der 20 Tage zum Aufbau der Hefezellen assimiliert worden. Denn in der Hefeflüssigkeit war kein Alkohol durch die Jodoformreaktion nachweisbar, ebenso war vorher auf den Objektträgern eine Gasentwicklung nicht wahrgenommen worden.

Von den drei anderen Dextrinen sind 44—50% vergohren worden, und zwar ist der Prozentsatz um so höher, je niedriger das specifische Drehungsvermögen des Dextrins ist. Aber trotzdem kann man auch diese drei Dextrine noch zu den schwer vergährbaren Substanzen rechnen, da die Oberhefe 25/III, die Rohrzucker glatt und vollständig vergährt, nicht im Stande gewesen ist, sie während 20 Tagen vollständig zu verarbeiten.

Wir kommen auf Grund dieser zahlreichen Versuche zu dem Schluss, dass sämmtliche vier Honigdextrine von Gährungsorganismen angegriffen werden und zwar von den untersuchten Weinhefen schwächer, als von den übrigen Hefen. Bei

Dextrin $(\alpha)_D = + 157^0$ tritt nirgendwo Vergährung ein, sehr wahrscheinlich findet jedoch mit allen Hefen eine Assimilation statt, was bei Oberhefe 25/III bestimmt nachgewiesen werden konnte.

Zusammenstellung:

Die Resultate der im Vorstehenden beschriebenen Experimentalstudien berechtigen, folgende Thatsachen festzustellen:

1. Als normaler Bestandteil der Honige, sowohl des Waldhonigs, als auch des Blütenhonigs, muss die Äpfelsäure betrachtet werden.

2. Die Dextrine des Coniferenhonigs lassen sich durch Fällungen mit Mischungen von Methyl- und Aethylalkohol als einheitliche Körper darstellen.

3. Dieselben sind als Uebergangsstadien von Stärke zu Zucker zu betrachten, und zwar nicht etwa als Gemenge von Dextrin und Zucker, sondern als einheitliche Körper vom Charakter der Achroodextrine. Jeder Coniferenhonig enthält ein ihm eigentümliches Dextrin von constanter specifischer Drehung, das entweder dem Stärkedextrin oder dem Zucker näher stehen kann. Die Dextrine verschiedener Honige haben ungleiche specifische Drehung.

4. Isoliert wurde aus vier typischen Coniferenhonigen je ein Dextrin mit folgenden specifischen Drehungsvermögen:

1. $(\alpha)_D = + 157^0$; 2. $(\alpha)_D = + 131{,}28^0$;
3. $(\alpha)_D = + 125{,}59^0$; 4. $(\alpha)_D = + 119{,}9^0$.

5. Dextrin $(\alpha)_D = + 157^0$ zeigt typischen Dextrincharakter, besitzt die empirische Formel $(C_6 H_{10} O_5)$ und ist gegen schwächere Säuren äusserst widerstandsfähig. Nur Salzsäure führt glatte Inversion aus.

6. Die übrigen drei Dextrine stehen dem Zucker näher, sie werden durch schwache Säuren leichter hydrolisiert.

7. Alle vier Dextrine reducieren Fehling'sche, Ost'sche Lösung und Soldaïni's Reagens nicht, erst nach einigem Kochen tritt Hydrolyse durch das Alkali und infolgedessen Abscheidung von Kupferoxydul ein. Sie wirken auf Barfoed's Reagens auch nach langem Kochen nicht ein.

8. Die Honigdextrine sind nicht im Stande, Osazone zu bilden.

9. Dextrin $_{(\alpha)}D = +157^0$ wird von kräftig wirkenden Gährungsorganismen nicht unter Gasentwicklung angegriffen. Sehr wahrscheinlich findet jedoch eine Assimilation dieses Dextrins statt, was bei Oberhefe 25/III bestimmt nachgewiesen werden konnte.

10. Die übrigen drei Dextrine werden dagegen unter Gasentwicklung angegriffen, immerhin gehören sie noch zu den schwer vergährbaren Substanzen.

11. Ober- und untergährige Bierhefen, sowie gewisse Arten von wilden Hefen, aus den Gattungen Saccharomyces und Schizosaccharomyces wirken energischer, als die Mehrzahl der untersuchten Weinhefen auf die Honigdextrine ein.

Es ist mir eine angenehme Pflicht, meinem sehr verehrten Lehrer, Herrn Obermedicinalrath Hofrath Prof. Dr. A. Hilger, für das Wohlwollen und Interesse, welches er meinen Studien und besonders der vorliegenden Arbeit jederzeit entgegenbrachte, auch an dieser Stelle meinen herzlichsten Dank auszusprechen.

München.

Laboratorium für angewandte Chemie der kgl. Universität.